



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Persea americana* “palta”
sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina
estudio in vitro

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

Médico Cirujano

AUTOR:

Kevin Floyd McCormack (ORCID: 0000-0003-0559-3389)

ASESORES:

DRA. María Rocío del Pilar Llaqué Sánchez. (ORCID: 0000-0002-6764-4068)

MG. Blgo. Jaime Polo Gamboa. (ORCID: 0000-0002-3768-8051)

DRA. Irma Luz Yupari Azabache (ORCID: 0000-0002-0030-0172)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ENFERMEDADES INFECCIOSAS Y TRANSMISIBLES

**Trujillo – Perú
2019**

DEDICATORIA

A MI MADRE

Por ser la única, la mejor de todas, la incondicional, por estar siempre a mi lado apoyándome, alentándome, Gracias por amarme cuidarme y por siempre confiar en mí. Te adoro te amo con todas mis fuerzas, gracias por todo sin ti no hubiera hecho realidad este gran sueño tan hermoso el ser médico.

A MI ESPOSA

Por compartir momentos tristes, y felices al soportarme cada momento de mis días durante el transcurso de esta hermosa carrera, y a la vez por darme unos hermosos bebés Kevin Lukas y Khyara Luanna por ser mi inspiración y razón de vivir.

A MI FAMILIA

Por confiar siempre en mí y muy especial para mi segunda madre Tina Johnson que siempre estuvo apoyándome durante toda mi carrera y para toda mi familia en general por permitir ser parte de esta hermosa y gran familia.

KEVIN MCCORMACK

AGRADECIMIENTO

A DIOS

Por ser la razón de mí existir,
por ayudarme, alentarme,
apoyarme, estar en cada
momento de mi vida y por su
gran amor incondicional
porque si no fuera por Dios no
hubiera sido posible terminar
con esta hermosa carrera.

A MIS ASESORES

Dra. María Roció del Pilar Llaqué
Sánchez. Mg. Jaime Abelardo Polo
Gamboa, por su infinita paciencia,
dedicación y entrega para hacer
realidad la ejecución de esta tesis.

A LA UNIVERSIDAD

Por darme la oportunidad y
las herramientas necesarias
a través de un Gran Director
de Escuela, el Dr. Áureo
Campos por su dedicación,
esmero y preocupación por
cada uno de nosotros sus
alumnos, y por supuesto de
los grandes maestros que
he tenido a lo largo de toda
la carrera.

KEVIN MCCORMACK

Página del Jurado

	ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS	Código : F07-PP-PR-02.02 Versión : 09 Fecha : 23-03-2018 Página : 1 de 1
---	------------------------------------	---

El jurado encargado de evaluar la tesis presentada por don KEVIN FLOYD MCCORMACK

Cuyo título es: **EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Persea americana* "palta" SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA ESTUDIO IN VITRO**

Reunido en la fecha, escuchó la sustentación y la resolución de preguntas por el estudiante, ortográficamente calificado de: 16 (Número).....

Dieciséis (letras)

21 de Noviembre de 2019


.....
MG. Rodríguez Díaz Ángela M.
PRESIDENTE


.....
María Rocío del P. Uaque Sánchez
SECRETARIO


.....
MG. Polo Gamboa Jaime A.
VOCAL

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable del SGC	Aprobó	Vice Rectorado de Investigación
---------	----------------------------	--------	---------------------	--------	---------------------------------

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Kevin McCormack con DI 506678086, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela de Medicina, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Además, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, octubre 2019.



KEVIN MCCORMACK

DI: 506678086

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada: **“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Persea americana* “palta” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA ESTUDIO IN VITRO.”**, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Médico Cirujano.

KEVIN MCCORMACK

Índice

Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Página del Jurado.....	iv
Declaratoria de autenticidad	v
Presentación.....	vi
Índice	vii
Resumen.....	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MÉTODO.....	7
2.1. Diseño de investigación y tipo de investigación	7
2.2. Variables y operacionalización	7
2.3. Población, muestra y muestreo.....	8
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad.....	8
2.5. Métodos de análisis de datos.....	9
2.6. Aspectos éticos:.....	9
III. RESULTADOS.....	10
IV. DISCUSIÓN.....	12
V. CONCLUSIONES.....	14
VI. RECOMENDACIONES	14
VII. REFERENCIAS.....	15
VIII. ANEXOS	18

RESUMEN

Se evaluó si el extracto etanólico de *Persea americana* “palta” tiene efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina 10 µg. In vitro. El extracto fue obtenido a través del método de maceración y se realizaron cuatro diluciones, al 100%, 75%, 50%, 25%. Las cepas fueron cultivadas en agar Mueller-Hinton y la sensibilidad se realizó con KirbyBauer se evidencia que a la concentración del 25% el efecto antibacteriano presenta un halo de 9.10 mm (DS: $1,100 \pm 0,348$, IC 95% (8,312 – 9,887) con un rango de 7 a 11 mm), considerándose resistente según CLSI (>13mm). A partir de la concentración del 50% se evidencia un efecto antibacteriano mediante un halo de 15,00 mm (DS: $0,994 \pm 0,314$, IC 95% (14,38 – 15,81) con un rango de 14 a 17 mm), al 75% tuvo un halo de 19.70 mm (DS: $1,059 \pm 0,335$, IC 95% (18,94 – 20,45) con un rango de 18 a 22 mm) y al 100% presentó un halo de inhibición de 22.00 mm (DS: $2,160 \pm 0,683$, IC 95% (20,45 – 23,54) con un rango de 19 – 25 mm) se considera sensible según el CLSI (>13 mm), sin embargo esta concentración no supera al grupo control de oxacilina que obtuvo un halo de inhibición de 31.10 mm (DS: $1,728 \pm 0,546$, IC 95% (29.86 – 32,33) con un rango de 28 a 33 mm). Por lo tanto, se evidenció que, al aumentar la concentración del extracto, el efecto inhibitorio fue mayor. Según el análisis estadístico los resultados son altamente significativos (ANOVA – 0.000) con grupos homogéneos, evidenciando que a mayor concentración del extracto aumenta el efecto inhibitorio, pero no supera al de oxacilina.

Palabras claves: *palta*, extracto etanólico, *efecto antibacteriano*,

ABSTRACT

Persea Americana “avocado” ethanolic extract was evaluated for any antibacterial effect on strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 compared to oxacillin 10 µg. The study was in vitro. The extract was obtained through the maceration method and four dilutions were performed, at 100%, 75% and 25%. The strains were cultivated by using Mueller-Hinton agar and the sensitivity was evaluated using the KirbyBauer test, showing that at a concentration of 25% the antibacterial effect presented a zone of inhibition of 9.10mm (DS: $1,100 \pm 0,348$, IC 95% (8,312 – 9,887) with a range from 7 to 11 mm), therefore it is considered resistant according to the CLSI (>13mm). At a concentration of 50% the antibacterial effect presented a zone of inhibition of 15.00 mm (DS: $0,994 \pm 0,314$, IC 95% (14,38 – 15,81) with a range from 14 to 17 mm); at a concentration of 75% the antibacterial effect presented a zone of inhibition of 19.70 mm (DS: $1,059 \pm 0,335$, IC 95% (18,94 – 20,45) with a range from 18 to 22 mm); and at a concentration of 100% the antibacterial effect presented a zone of inhibition of 22.00 mm (DS: $2,160 \pm 0,683$, IC 95% (20,45 – 23,54) with a range from 19 to 25 mm), considered sensitive according to the CLSI (>13mm). However, this concentration does not exceed the oxacillin control group, which had a zone of inhibition of 31.10mm (DS: $1,728 \pm 0,546$, IC 95% (29, 86 – 32, 33) with a range from 28 to 33 mm). As a result, it was shown that by increasing the concentration of the extract, the inhibitory effect was greater. According to the statistical analysis, the results are highly significant with homogeneous groups (ANOVA – 0.000), proving that the higher the concentration of the extract, the greater the inhibitory effect, but it does not exceed that of oxacillin.

Key words: *avocado*, ethanol extract, *antibacterial effect*

I. INTRODUCCIÓN

La patología de origen infeccioso se encuentra dentro del marco de enfermedades transmisibles, según la Organización mundial de la salud (OMS), en aquellas patrias que están en vías de desarrollo y escasos ingresos económicos son la primera causa de defunciones, con una incidencia de 0.05%; por otro lado se reportó que al año 2015 tuvo 56.4 millones de defunciones, donde cerca del 50% de estas se reportaron en patrias en vías de desarrollo.¹

El coco en racimos con tinción Gram positiva, que genera a nivel nosocomial más infecciones es el *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), su éxito se basa en la capacidad que tiene para generar una gran variedad de infecciones gracias a sus múltiples factores de virulencia, por otro lado el fenotipo que le confiere la resistencia a múltiples antibióticos como metilcilina y vancomicina a nivel nosocomial le permitió su conservación en el tiempo. Actualmente *S. aureus* es causante de enfermedades en casi todos los órganos, desde el nivel tegumentario tenemos al impétigo, abscesos, funiculitis entre otros, hasta infecciones mortales como neumonías necrotizantes y choque séptico.²

Según la Organización Panamericana de Salud, en uno de sus últimos informes manifiestan que de las 21 naciones que se encuentran bajo vigilancia 14 de ellas reportaron más de 23 mil casos por infecciones estafilocócicas con resistencia a metilcilina, donde Republica Dominicana tiene una incidencia del 29% considerando como la más baja, el Perú reportó un 72% colocándonos dentro de los países con la más alta incidencia. Los resultados mostrados por dicha organización obligan a la búsqueda y elección de nuevas opciones terapéuticas.³

Una de las opciones terapéuticas es la “fitoterapia”, históricamente el origen de muchos agentes antibacterianos, como *Persea americana* “palta”, actualmente reconocida su actividad farmacológica por las fitoalexinas (flavonoides, terpenos, taninos) componentes que evitan el crecimiento y propagación de múltiples bacterias.⁴

Evbuomwan L. et al (Nigeria, 2017), estudiaron la acción del extracto de *Persea americana* a 200, 100, 50, 25, 12.5 y 6.25mg/ml, sobre microorganismos bacterianos Gram negativos, positivos. Resultados muestran *S. aureus* un halo de 21.0 ± 1.0 mm a concentración de 200 mg/ml, Los autores concluyen que *Persea americana* presenta alta

sensibilidad en patógenos típicos, Gram negativos y positivos, pero en patógenos atípicos no tiene efecto antibacteriano.⁵

Owusu N. et al (Ghana, 2015), comprobaron la acción del extracto etanólico de hojas de *Persea americana* sobre diferentes tipos de bacterias mediante la técnica de kirby Bauer a diferentes concentraciones (100%, 50% y 25%). El extracto mostro actividad antimicrobiana sobre *S. aureus* con una medida de inhibición de 10 mm. Concluyen que el extracto muestra actividad variable para cada microorganismo en estudio.⁶

Akinpelu D. et al (Sudáfrica, 2015), experimentaron la acción in vitro del extracto sobre una cepa estandarizada de *Bacillus cereus* ATCC 14579 a través de placas de agar a (25, 50, 100mg/ml). El extracto etanólico mostro efecto antibacteriano mediante la medida del halo de inhibición. Concluyen que *Persea americana* es efectivo.⁷

Ogundare A. et al (Nigeria, 2014), analizaron la *Persea americana* en su presentación de extracto etanólico (50 mg/ml), sobre diferentes bacterias estandarizadas (NICB). Los efectos encontrados fueron para *S. aureus* NCIB 8588 de 12 mm, concluyen que en este caso *Persea americana* posee baja sensibilidad antibacteriana sobre cepas estandarizadas.⁸

Rodriguez J. et al (México, 2011), estudiaron el extracto de la hoja, cascara y semilla de *Persea americana* sobre diferentes tipos de microorganismos; se utilizó como antibiótico control a cloranfenicol y antifungico a cicloexemide. Los resultados evidenciaron efecto antibacteriano de la hoja en *S. aureus* (5.80 ± 1.06 mm). Concluyen que hubo efecto antibacteriano, menor que el antibiótico control y no posee efecto antifungico.⁹

Raymond T. et al (Australia, 2010), determinaron la acción antimicrobiana del extracto etanólico de *Persea americana* de la hoja y la semilla sobre bacterias y hongos. Los resultados fueron favorables en las lecturas de la hoja sobre *S. aureus* (CMI de 416.7 ± 144 ug/ml), concluyendo que *Persea americana* tiene buen efecto antibacteriano.¹⁰

Busmann R. et al (Estados unidos de América, 2010), determinaron la acción antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Persea americana* sobre patógenos bacterianos obtenidos en sus clínicas. El extracto etanólico de palta mostro efecto a *S. aureus* (9 mm). Concluyen que tiene buen efecto a cepas G. positivas.¹¹

Idris S. et al (Nigeria, 2009), analizan la *Persea americana* en Gram positivos y negativos, a muestras pacientes hospitalarios. Obtienen para *S. aureus* un halo de

inhibición de 37 mm. Concluyen que la planta tiene buen efecto incluso superando al antibiótico control solo en cepas Gram positivas, más no en las Gram negativa.¹²

Pesewu G. et al (Ghana, 2008), estudiaron el extracto por maceración de *Persea americana*, sobre microorganismo como *S. aureus* resistente a metilcilina NCTC 6571 (MRSA). Se encontró para *S. aureus* resistente a metilcilina NCTC 6571, un halo de 26 mm. Concluyen que *Persea a.* posee buena actividad antimicrobiana incluso en cepas con cierto grado de resistencia.¹³

Tradicionalmente el género *Staphylococcus* estaba contenido dentro de la familia de *Microcaceae* junto a *Planococcus* y *Stomatococcus*, no obstante en la actualidad mediante la homogeneidad genética se ha reconocido que el género *Microcaceae* y *Staphylococcus* están poco relacionados. La familia de *Staphylococcus* incluye 42 especies diferentes, determinado tipo de *Staphylococcus* habitan como flora normal en las mucosas, la piel en humanos y animales de sangre caliente. Comúnmente, en el organismo que coloniza esta bacteria tiene una localización específica, en el ser humano los *Staphylococcus* de mayor importancia clínica están *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*; siendo esta última con mayor relevancia clínica por su alta incidencia en enfermedades infecciosas.¹⁴

Los *Staphylococcus* son bacterias de forma esférica (cocos), que están dentro del género de Gram positivas, con un diámetro de hasta 1.5 μm . La terminología *Staphyle* que en griego significa “*en racimo de uvas*”, se refiere al hecho de que esta bacteria tiene un patrón de agrupación con semejanzas al racimo de uvas. Son bacterias que no poseen capsula, no forman esporas, inmóviles y en pocas ocasiones son anaerobias facultativas. En su gran mayoría producen una enzima, catalasa, que permite la escisión del peróxido de hidrogeno (H_2O_2) en oxígeno libre y agua. Esta enzima permite la diferenciación entre *Staphylococcus* catalasa positivo de aquellos *Enterococcus* y *Streptococcus* que no tienen la capacidad de producir la enzima.¹⁵

El periodo de incubación en un medio no selectivo para *Staphylococcus* es de 18 a 24h una de sus características propias es la producción de colonias de hasta 3 mm, que tienen como características el ser lisas, de bordes definidos, brillantes, de coloración amarillenta o dorada a causa de un pigmento de tipo caroteno; en su gran mayoría las cepas de *S. aureus* crean un halo de beta – hemólisis parcial o completa en medios de cultivo tipo agar-sangre.

La hemólisis que se produce, debido a la enzima coagulasa; compuesto proteico que nos permite identificar y diferenciar a *S. aureus* de otros tipos de *Staphylococcus*.¹⁶

Los patógenos Gram positivos generalmente tienen en su pared celular a los ácidos teicoicos y el peptidoglicano. Este último componente representa el 50% y le confiere la forma y estabilidad a *S. aureus*, así como su actividad endoxínica para el inicio de la patogenia infecciosa. Por otro lado, los ácidos teicoicos constituyen cerca del 40% del peso en la pared celular; son un grupo de polímeros que están constituidos por N-acetil-glucosamina y ribitol, por medio de estos ácidos teicoicos, se puede unir al epitelio mucoso mediante las fibronectinas. La membrana citoplasmática de *S. aureus*, está constituido por hidratos de carbono y lípidos, de utilidad por su efecto de barrera osmótica.¹⁷

Staphylococcus aureus puede empezar como un agente comensal en el sistema tegumentario en el ser humano; así mismo la mucosa del aparato vómero-nasal en un tercio de la población es el segundo lugar más frecuente donde se ha identifica a *S. aureus*. La infección se manifiesta cuando la homeostasis de los tejidos se encuentra afectada; una escisión de la piel o mucosas dan lugar a infecciones como carbúnculos y forúnculos. La infección de *S. aureus* más grave son: artritis séptica, neumonía estafilocócica o incluso la endocarditis estafilocócica.¹⁸

La *Persea americana* “palta” se originó en México, Centro o Sudamérica. Contiene aproximadamente 136 g de fruta comestible de textura agradable, cremosa, lisa, cubierta por una piel espesa de color verde oscuro, púrpura pálido y rugoso. La semilla y la piel de palta representan aproximadamente el 33% del peso total de la fruta entera. Las paltas son un alimento de la granja al mercado; No requieren procesamiento, conservantes ni potenciadores del sabor. La piel natural de la palta elimina la necesidad de envasado y ofrece resistencia a algunas enfermedades e insectos, le permite crecer en formas ambientalmente sostenibles.¹⁹

Los consumidores de palta ingieren una cantidad significativamente mayor de nutrientes clave en su dieta que los que no la consumen. El 50% de un palta es un alimento denso en nutrientes y fotoquímicos que consiste en lo siguiente: fibra dietética, azúcar total, potasio, sodio, magnesio, vitamina A, vitamina C, vitamina E, vitamina K, folato, vitamina B-6, niacina, ácido pantoténico, riboflavina, colina, luteína / zeaxantina, criptoxantina,

fitoesteroles y ácidos grasos mono insaturados, que puede soportar posibles efectos en la salud.²⁰

La palta contienen un aceite rico en ácidos grasos mono insaturado (MUFA), en una matriz a base de agua, que parece mejorar la biodisponibilidad de nutrientes y fitoquímicos y enmascara el sabor y la textura de la fibra dietética. Es una fruta de densidad energética media porque aproximadamente el 80% de ella contiene agua y fibra que le da la característica de un vegetal bajo en grasa.²¹

Un estudio demostró que el consumo de palta baja el riesgo de enfermedades metabólicas, baja el peso y circunferencia de la cintura. Una fruta de palta (136 g) tiene perfiles de nutrientes y fitoquímicos similares a 1.5 onzas (42.5 g) de nueces de árbol (almendras, pistachos o nueces).²²

El mecanismo farmacológico de la droga vegetal radica en la composición de sus elementos los cuales están distribuidos en 3 grupos; el metabolismo primario, secundario y los elementos inorgánicos. El metabolismo primario hace referencia a los elementos de vital importancia para la planta como son los glúcidos, lípidos y los aminoácidos. Los elementos inorgánicos como el agua y minerales que en mayor porcentaje tiene una procedencia externa. Finalmente, el metabolismo secundario dentro de este grupo no es necesariamente buenos para la vida vegetal, encontramos a los polifenoles, los terpenos, alcaloides y los terpenoides, dichos componentes están agrupados bajo la denominación de fitoalexinas.²²

En relación a los microorganismos se encuentran en toda la superficie no estériles, esto incluye nuestro medio ambiente y por tal motivo cada ser vivo del planeta genera o desarrolla mecanismos de defensas, las fitoalexinas son el sustrato bioquímico, fisiológico y farmacológico de la resistencia a dichos microorganismos, es así que cuando las plantas se enfrentan a una infección esta droga vegetal comienza a sintetizar su mecanismo de defensa (metabolismo secundario). En *Persea Americana* se han individualizado varias fitoalexinas como los terpenoides, flavonoides y flavonas, la expresión de estos elementos es por exposición y son liberados por medio de hidrólisis enzimática. La fitoalexinas se ha descrito que tiene como sitio diana en el microorganismo la membrana celular.²²

El problema planteado fue: ¿El extracto etanólico de *Persea americana* posee efecto antibacteriano sobre cepas de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina 5ug, estudio in vitro?

Una de los patógenos bacterianos que reporta los más altos niveles de resistencia antibiótica es *S. aureus* exigiendo día a día la búsqueda de nuevas y mejores alternativas terapéuticas inocuas para el ser humano. La fitoterapia históricamente tiene una relación estrecha con el origen de casi todos los antibióticos de más alto espectro antimicrobiano o como complementario al tratamiento con otras sustancias; la actualización en la investigación de nuevas drogas vegetales motiva a la realización de este estudio el cual permitirá la adquisición de nuevos datos y generar nuevas incógnitas que permitan descubrir nuevas y mejores modalidades para el uso de plantas medicinales que puedan asociarse a los productos farmacológicos a fin de potenciarlos o facilitar su acción bactericida o bacteriostática como una alternativa viable e inocua de enfrentar a los problemas de resistencia bacteriana.

La hipótesis que se generó del problema fue: El extracto etanólico de *Persea americana*, tiene efecto antimicrobiano en bacterias de *S. aureus* ATCC 25923 confrontado con Oxacilina 5ug. In vitro.

El objetivo general planteado fue: Evaluar si el extracto de *Persea americana* “palta” tiene efecto antimicrobiano en bacterias de *S. aureus* ATCC 25923 confrontado con Oxacilina 5ug. In vitro.

Los objetivos específicos fueron: Establecer la eficacia del extracto de la hoja de *Persea americana* “palta” al 25%, 50%, 75% y al 100%. Establecer la eficacia del Oxacilina a la concentración de 5 µg.

II. MÉTODO

2.1. DISEÑO INVESTIGACIÓN, TIPO DE INVESTIGACIÓN:

TIPO: Básico²⁵

DISEÑO: Experimental con repetidas múltiples post prueba; se consideró 06 grupos de experimentación (RG₁ - RG₆), considerando el tipo de estímulo (X₁ a X₆) relacionada a las diluciones de *Persea Americana* (100, 75, 50, 25%) un grupo control con oxacilina a 5µ, y grupo control neutro con agua destilada. (Ver anexo 01)²⁵

2.2 VARIABLES Y OPERALIZACIÓN

INDEPENDIENTE: Agente antibacteriano para cepas de *S. aureus* ATCC 25923

- **No farmacológico:** *Persea americana* “palta”
- **Farmacológico:** Oxacilina de 5 µg

DEPENDIENTE: efecto antibacteriano.

- **Con efecto:** aumento ≥ 13 mm.
- **Sin efecto:** disminución < 13 mm.

Operacionalización de variables:

VARIABLE	D. CONCEPTUAL	D. OPERACIONAL	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN
V. I: Agente antibacteriano	Sustancia producida por microorganismos, que en bajas concentraciones es posible inhibir microorganismos sin producir efectos tóxicos en el huésped. ²³	Se determinan 6 grupos. La <i>Persea americana</i> se fracciona en diluciones: <ul style="list-style-type: none">• 100%• 75%• 50%• 25%• Oxacilina• Agua destilada	<ul style="list-style-type: none">• RG1• RG2• RG3• RG4• RG5• RG6	Cualitativa nominal
V. D: Efecto antibacteriano	Inhibición del crecimiento y desarrollo de bacterias o su eliminación sin dañar el organismo infectado. ²³	Se considera según criterios: M100-S28 ¹⁹ del CLSI Sensible: ≥ 13 mm Intermedio: 11-12 mm Resistente: ≤ 10 mm	Con efecto antibacteriano: > 13 mm Sin efecto antibacteriano: < 13 mm	Cualitativa nominal

2.3. POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

POBLACIÓN: Estuvo constituida todas las cepas de *S. aureus* ATCC 25923, cultivadas en el laboratorio clínico San José.

MUESTRA:

Tamaño muestra: Por ser trabajo experimental empleó formula estadística para diferencia de dos promedios, la misma que facilitó obtener el número de 10 repeticiones requeridas en el estudio por cada grupo en experimentación.²⁵ (Ver Anexo 01)

Unidad de análisis: Cada cultivo de cepas de *S. aureus* ATCC 25923

Unidad de muestra: Cada placa Petri con cepas de *S. aureus* ATCC 25923

Muestreo: Aleatorio simple dentro de cada cultivo.

CRITERIOS DE SELECCIÓN:

Fueron incluidos: Placas Petri con evidencia de crecimiento bacteriano.

Se excluyeron: Cepas que sin evidencia de crecimiento en los cultivos y/o cepas o muestra contaminadas.

2.4 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD

LA TÉCNICA: Se realizó observación directa en campo, de 60 cultivos en las placas Petri.²⁶

PROCEDIMIENTO: realizaron los siguientes procesos.²⁶ (Ver Anexo 03)

- a. Inicia con tipificación de la planta en la Universidad Nacional de Trujillo, Herbarium Truxillense (HUT) Flora Peruana.
- b. Mediante la técnica de maceración se obtuvo el extracto etanólico del *Persea americana*.
- c. El cultivo de la bacteria se ejecutó mediante el método de Agar Muller Hinton.
- d. La sensibilidad antibacteriana se determinó, siguiendo normas, procedimientos establecidos en estándares M100-S28¹⁹ del CLSI.

INSTRUMENTO: Se elaboró la ficha recolección de datos que permitió recolectar información sobre el número de repeticiones, en cada placa, los 06 grupos de experimentación y milímetros de los halos de inhibición a las 48 horas.²⁷ (Ver Anexo 04).

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO: Fue validado por tres profesionales de la salud 2 microbiólogos y 1 medico.²⁷ los mismos que evaluaron la utilidad del instrumento en el recoger la información necesaria al estudio. (Ver anexo 05)

2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS

La información fue transcrita al programa Excel Vs para Windows 10, luego se analizó en el programa SPSS versión 25. Se establecieron las pruebas estadísticas para igualar la muestra, análisis de varianza (ANOVA) y para evaluar grupo con mayor efecto, el análisis Post ANOVA de Tukey. Los resultados se presentan en el diagrama de cajas o bigotes. ²⁵

2.6. ASPECTOS ÉTICOS:

En el estudio se tomó las medidas de bioseguridad en el taller dadas por el Ministerio de Salud. (Ver Anexo 06). Respetando también el principio de ética adoptado en el capítulo 6 de código de ética del Colegio Médico del Perú, especialmente el 6 art 48.³⁰

Que comprometen al investigador a evidenciar que los resultados del estudio son originales sin alteración de la información, realizados por él investigador. (Ver anexos del 07 al 08)

III. RESULTADOS

Tabla 1: Datos descriptivos de las medias de los halos de inhibición de la *Persea americana* sobre *S. aureus* ATCC25923, comparado con Oxacilina in vitro

Tratamiento	N	Media	Desv.	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
100%	10	22,00	2,160	0,683	20,45	23,54	19	25
75%	10	19,70	1,059	0,335	18,94	20,45	18	22
50%	10	15,00	0,994	0,314	14,38	15,81	14	17
25%	10	9,10	1,100	0,348	8,312	9,887	7	11
Oxacilina	10	31,10	1,728	0,546	29,86	32,33	28	33

Fuente: Reporte SPSS Vs 25

Tabla 2: Análisis de Varianza (ANOVA) de las medias de los halos de inhibición de la *Persea americana* sobre *S. aureus* ATCC25923, comparado con Oxacilina in vitro

ANOVA					
VAR00007					
	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	2683.200	4	670.800	305.526	0.000
Dentro de grupos	98.800	45	2.196		
Total	2782.000	49			

Fuente: tabla 01 y reporte SPSS V.s 25

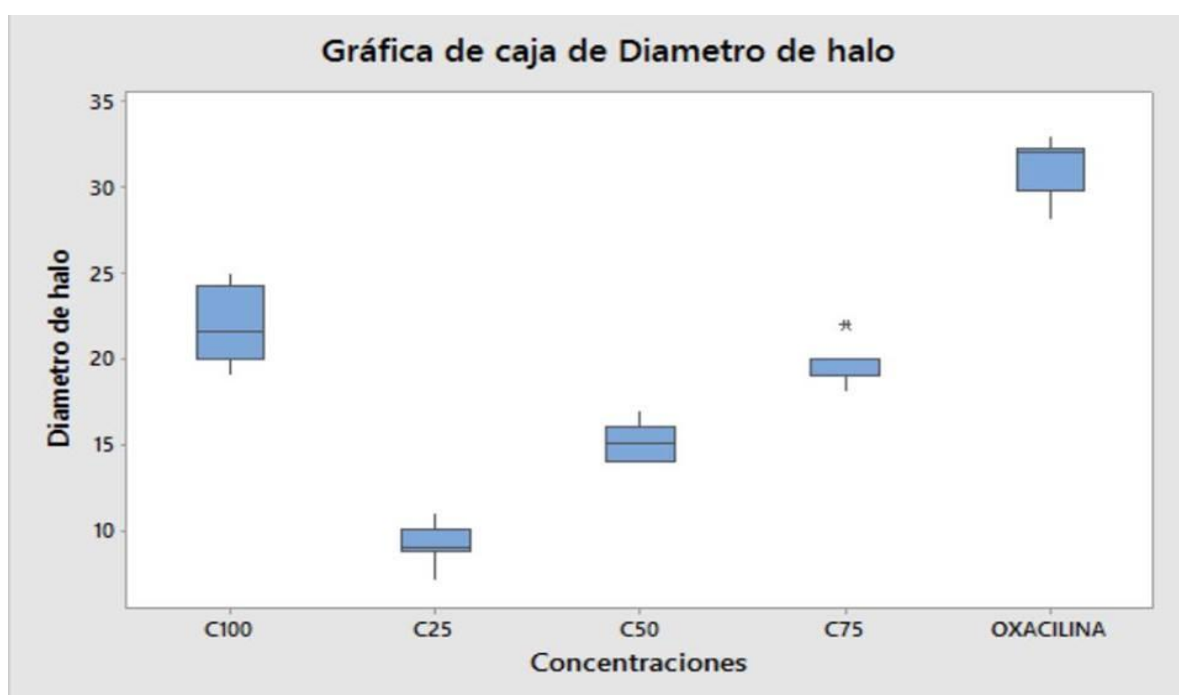
P: 0.000

Tabla 3: Análisis POST ANOVA DE TUKEY, de las medias de los halos de inhibición de la *Persea americana* sobre *S. aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina in vitro

VAR00007						
VAR00006	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
HSDTukey ^a	25%	10	9.1000			
	50%	10	15.1000			
	75%	10	19.7000			
	100%	10	22.0000			
	Oxacilina	10				31.1000
	Sig.	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos. a. Utiliza el tamaño de la media armónica_10,000

Fuente: tabla 01 y reporte SPSS V.s 25



Fuente: tabla 01 y reporte SPSS V.s 25

Figura 1: Distribución de las medias de los halos de inhibición de la *Persea americana* sobre *S. aureus* ATCC 25923, comparado con Oxacilina in vitro

IV. DISCUSIÓN

El presente estudio fue motivado por los reportes de organizaciones mundiales, tales como la OMS Y OPS, donde se hace mención al porcentaje altísimo de aquellas patologías de origen infeccioso sobre todo en patrias que se encuentran en desarrollo, por tal motivo este estudio evalúa el efecto antibacteriano de las hojas de *Persea americana* “palta” (100%, 75%, 50% y al 25%), mediante difusión en discos de agar, de *S. aureus* ATCC 25923, utilizó un control positivo a oxacilina de 5ug y negativo a suero fisiológico, la cantidad de repeticiones se estableció mediante la fórmula estadística de comparación de dos promedios con varianza desconocida, dando como resultado 60 repeticiones.

En la tabla N° 1 muestra la media de los halos de inhibición sobre *S. aureus* de los 06 grupos de estudio; Según los criterios del CLSI (sensible >13 mm)¹⁹ el extracto de *Persea americana* a la concentración del 25% el efecto antibacteriano es bajo, considerándose resistente (9.10 mm). Los halos aumentan a partir de las concentraciones del 50% [15 mm, DS: $0,994 \pm 0,314$, IC 95% (14,38 – 15,81) con un rango de 14 a 17 mm], al 75% [19.70 mm, DS: $1,059 \pm 0,335$, IC 95% (18,94 – 20,45) con un rango de 18 a 22 mm] y al 100% fue mayor [22 mm DS: $2,160 \pm 0,683$, IC 95% (20,45 – 23,54) con un rango de 19 – 25 mm] estos son considerados con sensibles demostrando tener mejor efecto antibacteriano cuando se aumenta la concentración; sin embargo no superaron al grupo control de oxacilina [31.10 mm (DS: $1,728 \pm 0,546$, IC 95% (29.86 – 32,33) con un rango de 28 a 33 mm].

En la tabla N° 2 resultados del análisis de la varianza de las medias de los grupos evaluados (ANOVA), mostraron que el estudio es “altamente significativo” (p : 0.000) siendo los grupos homogéneos y en la Tabla N3, el análisis Post ANOVA de tukey, permite evaluar el grupo que tuvo mejores efectos inhibitorios. Y en el Gráfico 01 se visualiza mejor los cuartiles de las medias evidenciando que a mayor concentración del extracto etanólico de la planta el efecto inhibitorio es mayor, sin embargo no supera al grupo control de oxacilina, que sigue siendo el tratamiento de elección.

Los autores que evidenciaron un buen efecto antibacteriano sobre *S. aureus* fueron: **Evbuomwan L. et al⁵** (21 mm), **Pesewu G. et al¹³** (28 mm), **Idris S. et al¹²** (37 mm, incluso mayor al antibiótico control oxacilina), estos resultados puede darse por el medio

geográfico de donde se recogió la *Persea americana* “palta” y el tipo de proceso de adquirir los diferentes extractos.

Los que muestran resultados menores de inhibición fueron **Owusu N. et al**⁶ (10 mm para 100% de dilución), **Rodríguez J. et al**⁹ (5mm), esto se puede deber a que trabajo con extracto acuoso y no con extracto etanólico, lo cual puede no haber permitido que se obtengan en cantidad suficiente los principios activos de la planta.

Hay que considerar que *S. aureus* en su pared celular tiene ácidos teicoicos y el peptidoglicano, este último le confiere la forma y estabilidad y actividad endoxínica a la bacteria propiciando su patogenicidad. Los ácidos teicoicos (polímeros de N-acetil-glucosamina y ribitol), permite la bacteria de una al epitelio mucoso mediante las fibronectinas. Y la membrana citoplasmática de *S. aureus*, al estar constituida por hidratos de carbono y lípidos, que le sirven de barrera osmótica.¹⁷

Desde el punto de vista farmacológico la planta al tener dentro de sus 3 grupos, al metabolismo secundario dentro como los polifenoles, los terpenos, alcaloides y los terpenoides, (fitoalexinas),²² conforman unos mecanismos de defensas secundarios, estas fitoalexinas son unos elementos (bioquímicos, fisiológicos y farmacológicos) que permiten la resistencia a diferentes microorganismos. Las fitoalexinas como los terpenoides, flavonoides y flavonas, son liberados por medio de hidrolisis enzimática y la fitoalexinas se ha evaluado que tiene como sitio diana en el microorganismo a la membrana celular.²² Por ello el efecto antibacteriano de la planta.

V. CONCLUSIONES

- El extracto etanólico de la hoja de *Persea americana* mostró tener efecto antimicrobiano en *Staphylococcus aureus* a medida que se aumentaba la concentración considerándose susceptibles CLSI (≥ 13 mm); sin embargo oxacilina tuvo mayor efecto.
- En relación a la eficacia del extracto, la sensibilidad se presentó a partir de 50%, aumentando conforme aumentaba la concentración del mismo.
- La oxacilina tuvo mayor sensibilidad, considerándose más eficaz en relación a la planta.

VI. RECOMENDACIONES

- Se sugiere promover otros trabajos que evalúen el efecto antimicrobiano de la combinación de *Persea americana* sobre otros microorganismos y fármacos.
- Propiciar el estudio de los principios activos de la planta para poder analizar su acción a nivel molecular sobre los microorganismos patógenos in vitro.
- Elaborar investigaciones de la utilidad de la planta como antimicrobiano en modelos con animales vivos.
- Se podría difundir el estudio para estimular en otros estudiantes la búsqueda de nuevas aplicaciones de la planta teniendo en cuenta sus otras propiedades fitoquímicas.

VII. REFERENCIAS

1. Organización Mundial de la Salud. Los 10 principales causas de defunción. Ginebra, Suiza: Organización Mundial de la Salud; 2015. (Citado: 20/08/2017) Disponible en <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/index1.html>.
2. Bustos J, Hamdan A, Gutierrez M. Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Rev Biomed 2006; 17 (4):287-305. (Citado: 20/08/2017) Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2006/bio064f.pdf>.
3. Organización Panamericana de la Salud. Informe Anual de la Red de Monitoreo/Vigilancia de la Resistencia a los Antibióticos. Washington, D.C.: OPS; 2008. (Citado: 20/08/2017) Disponible en <http://bvs.minsa.gob.pe/local/minsa/1822.pdf>.
4. Cebrian J. Diccionario de plantas medicinales. 1º edición. Barcelona: Integra; 2012.
5. Evbuomwan L. Inetianbor J. Antibacterial Activity of Persia Americana Leaf Extracts Against Multidrug Resistant Bacterial Isolates. JUBIOSCI: [internet] 2017 [Consultado 13 Marzo 2019]; 3(4): 29-34. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/320403997_Antibacterial_Activity_of_Persia_americana_Leaf_Extracts_Against_Multidrug_Resistant_Bacterial_Isolates
6. Owusu N. Ama S. Mensah J. Sylvester B. Baah M. Phytoconstituents, antimicrobial and antioxidant properties of the leaves of Persea americana Mill cultivated in Ghana. J. Med. Plants Res: [internet] 2015 [Consultado 13 Marzo 2019]. Vol. 9(36), pp. 933- 939. Disponible en: <http://ir.knust.edu.gh/bitstream/123456789/11213/1/Boadi%20et%20al.%20-%202015%20-%20Phytoconstituents%20%2c%20antimicrobial%20and%20antioxidant%20properties%20of%20the%20leaves%20of%20Persea%20americana%20Mill%20cultivated%20in-annotated.pdf>
7. Akinpelu D. Aiyegoro A. Akinpelu F. Okoh I. Stem Bark Extract and Fraction of Persea Americana (Mill.) Exhibits Bactericidal Activities against Strains of Bacillus Cereus Associated with Food Poisoning. Molecules: [internet] 2015 [Consultado 13 Marzo 2019], 20, 416-429. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6272733/pdf/molecules-20-00416.pdf>

8. Ogundare A. Oladejo B. Antibacterial Activities of the Leaf and Bark Extract of Persea Americana. American Journal of Ethnomedicine, 2014, Vol. 1, No. 1, 064-071. [Citado el 23 de marzo del 20119]. Disponible en: <http://www.imedpub.com/articles/antibacterial-activities-of-the-leaf-and-barkextract-of-persea-americana.pdf>
9. Rodríguez J. Morcuende D. Andrade M. Estevez M. Avocado (Persea Americana Mill.) Phenolics, In Vitro Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Inhibition of Lipid and Protein Oxidation in Porcine Patties. J. Agric. Food Chem. 2011, 59, 5625–5635. [Citado el 23 de marzo del 20119]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/121671/jortiz.pdf?sequence=1>
10. Raymond T. Dykes G. Antimicrobial activity of crude epicarp and seed extracts from mature avocado fruit (Persea Americana) of three cultivars. Pharmaceutical Biology, 2010; 48(7): 753–756. [Citado el 23 de marzo del 20119]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/13880200903273922?needAccess=true>
11. Bussmann R. Antibacterial activity of medical plants of northem peru- can traditional applications provide leads for modern science. <http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/10330/1/IJTK%209%284%29%20742-753.pdf>
12. Idris S. Ndukwe G. Gimba C. Preliminary Phytochemical Screening and antimicrobial activity of seed extracts of persea Americana (avocado pear). Bayero Journal of Pure and Applied Sciences, 2(1):173 – 176. [Citado el 23 de marzo del 20119]. Disponible en: <https://www.ajol.info/index.php/bajopas/article/view/58538>
13. George A. Pesewu a,b, Ronald R. Cutler a,*, David P. Humber a. Antibacterial activity of plants used in traditional medicines of Ghana with particular reference to MRSA <https://sci-hub.tw/https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874107005958>
14. Brooks G. Carrol K. Buyel J. Morse S. Migtzner T. Microbiología médica. 25º edición. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
15. Forbes B. Sanm D. Weissfeld A. Trevio E. Diagnostico microbiológico. 11º edición. Uruguay.: Editorial Medica Panamericana; 2004.

16. Murray P. Rosenthal K. Pfaller M. Microbiología medica. 6º edición. Barcelona, España: El Sevier Masson; 2009.
17. Ammad N. Plorde J. Lawrence W. Sherris microbiología medica. 5º edición. Colombia, Santa Fe: Mc Graw Hill; 2010.
18. Balasini C. Reina R. Candela M. Infectología critica manejo de la patología infecciosa en el paciente grave. 1º edición. Buenos aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; 2014.
19. Garcia F. Mostacero J. Flora etnomedicinal de la región amazónica del Perú. 1º edición. Trujillo, Perú; 2009.
20. Kuklinski C.F armacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 1º edición. Barcelona: Omega; 2000.
21. Robbers J. Tyler V. Las hierbas medicinales de Tyler uso terapéutico de la fitomecinas. 1º edicion. Barcelona: Editoria Acribia S.A; 2006.
22. Valera G. Las plantas medicinales y su beneficio en la salud. la ed. Lima ed. AIDSESEP, 1994.
23. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 26th ed. CLSI Supplement M100S. 19087 USA, 2016. [citado: 25 de May de 2017]. Disponible en: <http://ljzx.cqrmhospital.com/upfiles/201601/20160112155335884.pdf>
24. Dawson B. Trapp R. Bioestadística Médica, 3ra. ed. México: Manual Moderno; 1999.
25. Hernandez R. Metodología de la investigación. 3º ed. Mexico: McGraw-Hill; c2003. 705p.

VIII. ANEXOS

Acta de aprobación de originalidad de tesis

	ACTA DE APROBACIÓN DE ORIGINALIDAD DE TESIS	Código : F06-PP-PR-02.02 Versión : 09 Fecha : 23-03-2018 Página : 1 de 1
---	--	---

Yo MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ, docente de la Facultad de Ciencias Médicas y Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo de Trujillo, revisor (a) de la tesis titulada:

**“EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE
Persea americana “palta” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
COMPARADO CON OXACILINA ESTUDIO IN VITRO”**

Del estudiante KEVIN FLOYD MCCORMACK constato que la investigación tiene un índice de similitud de 16 % verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin.

El/la suscrito (a) analizó dicho reporte y concluyó que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

Lugar y fecha Trujillo 21 de noviembre del 2019



Firma

Dra. MARÍA ROCÍO DEL PILAR LLAQUE SÁNCHEZ

DNI: 17907759

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable de SDC	Aprobó	Vice Rectorado de investigación
---------	----------------------------	--------	--------------------	--------	---------------------------------

Reporte de Originalidad – Software turnitin

TESIS FINAL DE ORIGINALIDAD

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

13%

FUENTES DE
INTERNET

0%

PUBLICACIONES

14%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Submitted to Universidad Cesar Vallejo

Trabajo del estudiante

10%

2

repositorio.ucv.edu.pe

Fuente de Internet

6%

3

Submitted to Universidad Politecnica Salesiana
del Ecuador

Trabajo del estudiante

1%

4

documents.mx

Fuente de Internet

<1%

5

repositorio.unheval.edu.pe

Fuente de Internet

<1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

< 10 words

Excluir bibliografía

Apagado

Autorización de publicación de tesis en repositorio

	<p>AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS EN REPOSITORIO INSTITUCIONAL UCV</p>	<p>Código : F08-PP-PR-02.02 Versión : 09 Fecha : 23-03-2018 Página : 1 de 1</p>
--	---	--

Yo KEVIN FLOYD MCCORMACK, identificado con DNI N° 96377372 egresado de la Escuela Profesional de Medicina de la Universidad César Vallejo, autorizo (X), No autorizo ☒ la divulgación y comunicación pública de mi trabajo de investigación titulado “EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Persea americana* “palta” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA ESTUDIO IN VITRO”; en el Repositorio Institucional de la UCV (<http://repositorio.ucv.edu.pe/>), según lo estipulado en el Decreto Legislativo 822, Ley sobre Derecho de Autor, Art. 23 y Art. 33

Fundamentación en caso de no autorización:

[illegible]

Kevin F. McCormack
FIRMA

DNI: 96377372

FECHA: Trujillo 21 de Noviembre del 2019

Elaboró	Dirección de Investigación	Revisó	Responsable del SGC	Aprobó	Vice Rectorado Investigación
---------	----------------------------	--------	---------------------	--------	------------------------------

Autorización de la versión del trabajo de Investigación



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

AUTORIZACIÓN DE LA VERSIÓN FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

CONSTE POR EL PRESENTE EL VISTO BUENO QUE OTORGA EL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN DE:

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE MEDICINA

A LA VERSION FINAL DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN QUE PRESENTA:

MCCORMACK KEVIN FLOYD

INFORME TITULADO:

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Persea americana* "palta" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina estudio in vitro

PARA OBTENER EL GRADO O TÍTULO DE:

MÉDICO CIRUJANO

SUSTENTADO EN FECHA: 21 de Noviembre del 2019

NOTA O MENCIÓN: Dieciséis (16)

.....
David Rodríguez Díaz
MÉDICO CIRUJANO
C.M.P. 48557

FIRMA DEL ENCARGADO DE INVESTIGACIÓN

ANEXO 01

TAMAÑO DE MUESTRA

FORMULA ESTADISTICA

$$n = \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 2\sigma^2}{(\bar{X}_1 - \bar{X}_2)^2}$$

$$Z_{\frac{\alpha}{2}} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = 0.84$$

$$\bar{x}_1 = 13\text{mm}^{10}$$

$$\bar{x}_2 = 21\text{mm}^5$$

$$\sigma: 1.5^5$$

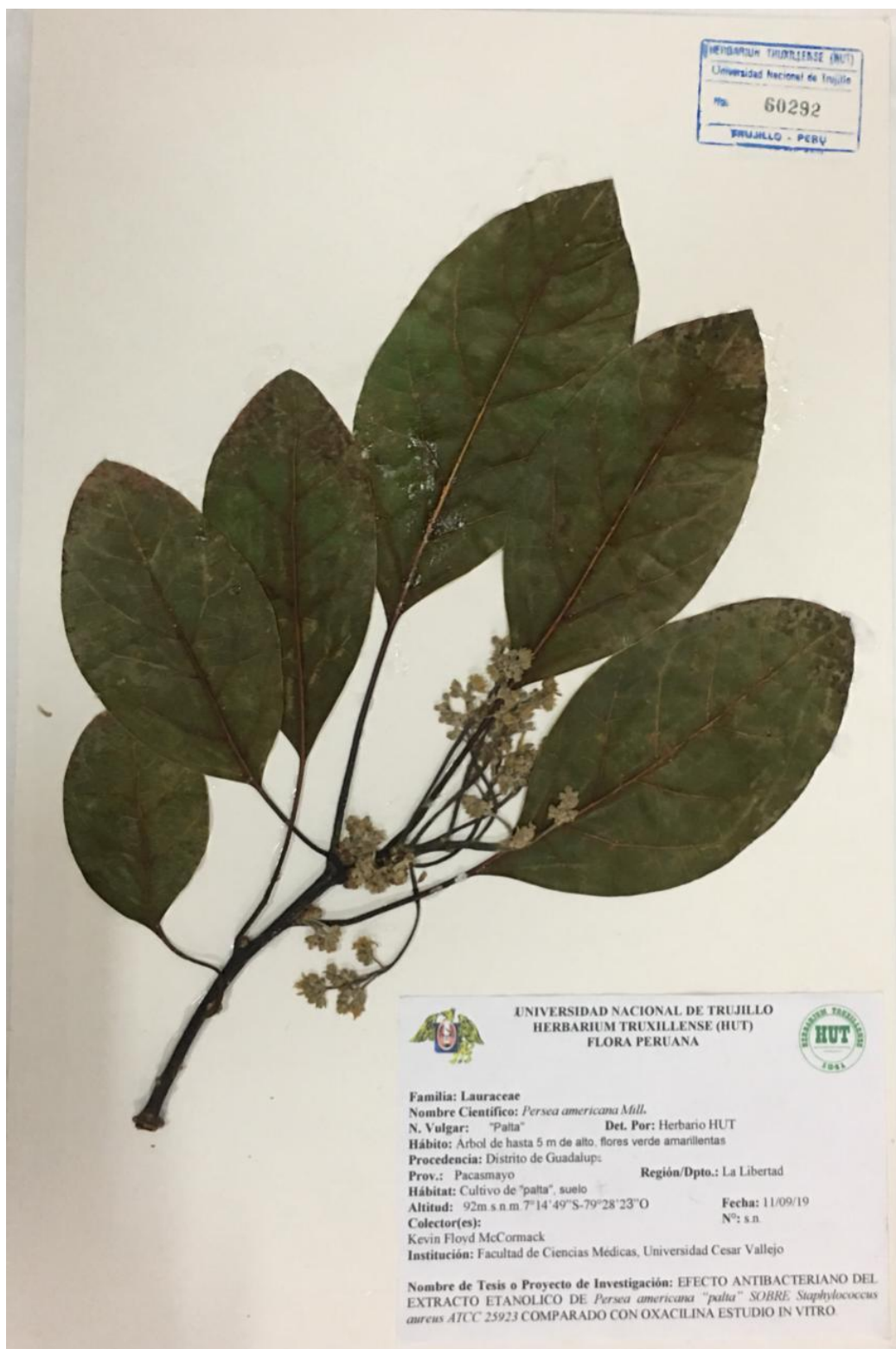
$$n = 10 \text{ (número de placas mínimas)}$$

Asumiendo la pérdida de las muestras se utilizará 10 placas Petri y se ejecutarán 60 observaciones

Teniendo en cuenta la pérdida de las muestras se usará 10 placas Petri y se realizarán 60 observaciones.

ANEXO 02

CERTIFICACION DE LA PLANTA



ANEXO 03

PROCESO DE EXTRACCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA HOJA DE *Persea americana* “palta”

PROCEDIMIENTO

Tratamiento de la muestra

Las hojas frescas de *Persea americana* “palta”, se obtuvieron en el mercado zonal Palermo de Trujillo, procedentes de la localidad de Simbal, La Libertad, en una cantidad de 4 Kg aproximadamente y se llevaron al laboratorio de Microbiología Clínico San José de Trujillo, donde se seleccionaron los ejemplares con buenas condiciones. Las hojas se lavaron con agua corriente y después con agua destilada clorada. Se colocaron sobre papel absorbente hasta quitarles los residuos de agua. Luego, se colocaron en una bandeja de cartulina y se llevó al horno a deshidratar por convección a 40-45°C por 48 horas. Después, se trituró manualmente hasta que se obtuvo partículas muy pequeñas y se reservó almacenándolo herméticamente en una bolsa negra.



Obtención del extracto etanólico

El extracto etanólico de *Persea americana* “palta” se obtuvo por el método de maceración en etanol de 96°; para ello, se colocó en un frasco de vidrio 20 g de la muestra deshidratada y triturada y 100 ml de etanol, se tapó el frasco herméticamente y se envolvió totalmente con papel aluminio. Luego, se llevó al horno a 40-45°C por 8 días con agitación de 4 veces diarias. Después, se



hizo una doble filtración. Primero se filtró a través de una gasa estéril y segundo a través de un papel filtro Whatman N°41. Este filtrado, se evaporó por convección en estufa a 40-45°C, por 1 a 2 días, hasta que quede a una concentración mayor a 200 mg/mL. De este modo, se obtuvo el extracto etanólico (EE) considerado al 100%; el cual, se reservó en un frasco de vidrio ámbar a 4°C–6°C hasta su utilización.



Preparación del medio de cultivo

Se utilizó agar Mueller-Hinton como medio de cultivo. Se preparó suficiente medio para 10 placas Petri. Este medio de cultivo se esterilizó en autoclave a 121°C por 15 minutos. Después, se sirvió en Placas Petri estériles de plástico desechables, 18-20 ml por cada placa, y se dejó reposar hasta que solidificó completamente.



Prueba de susceptibilidad (Prueba de Disco difusión en agar) Se evaluó utilizando el método de Kirby-Bauer de disco difusión en agar. Para ello, se consideró los criterios del Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI de Estados Unidos de América. Se tomó en cuenta los estándares M02 y M100.

- a) Preparación del inóculo El inóculo se preparó colocando 2-3 ml de suero fisiológico en un tubo de ensayo estéril, al cual se le adicionó una alícuota del microorganismo *Staphylococcus aureus*, cultivado hace 24 horas, de tal modo que se observó una turbidez equivalente al tubo 0,5 de la escala de McFarland ($1,5 \times 10^8$ UFC/ml aprox.)



- b) Siembra del microorganismo Se sembró el microorganismo *Staphylococcus aureus*, embebiendo un hisopo estéril en el inóculo y deslizándolo sobre toda la superficie del medio de cultivo en las Placas Petri (siembra por estrías en superficie); de tal modo, que el microorganismo quedó como una capa en toda la superficie.

- c) Preparación de las concentraciones del EE A partir del EE, se prepararon 3 concentraciones (100%, 75%, 50% y 25%) utilizando como solvente Dimetil Sulfóxido (DMSO); para ello, se rotularon 3 tubos de ensayo de 13x100mm estériles con las 4 concentraciones y se colocó 750 μ L de EE y 250 μ L de DMSO al tubo de 75%, 500 μ L de EE y 500 μ L de DMSO al tubo de 50%, y 250 μ L de EE y 750 μ L de DMSO al tubo de 25%.



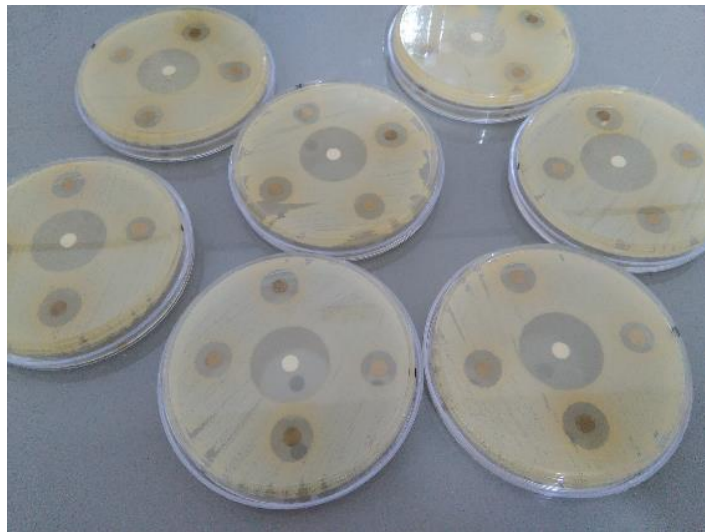
- d) Preparación de los discos de sensibilidad con EE 42 A partir de cada una de las concentraciones, se colocó 10 μ L en cada disco de papel filtro Whatman N° 1 de 6mm de diámetro, previamente esterilizados. Se tomó 10 μ L de EE al 25% y se colocó en un disco, 10 μ L de EE al 50% en otro disco, 10 μ L de EE al 75% en otro disco y 10 μ L de EE al 100% en otro disco. Esto se repitió por 10 veces.

- e) Confrontación del microorganismo con el agente antimicrobiano Con la ayuda de una pinza metálica estéril, se tomaron los discos de sensibilidad preparados, uno de cada concentración con EE, y se colocaron en la superficie del agar sembrado con el microorganismo *Staphylococcus aureus*, de tal modo que quedaron los discos (uno de cada concentración) a un cm del borde de la Placa Petri y de forma equidistante. Adicionalmente, se colocó el disco con oxacilina (control positivo). Se dejaron en reposo por 15



min y después las placas se incubaron de forma invertida en la estufa a 35- 37°C por 18-20 horas.

- f) Lectura e interpretación La lectura se realizó observando y midiendo con una regla Vernier, el diámetro de la zona de inhibición de crecimiento microbiano. Esta medición se realizó para cada una de las concentraciones de Persea americana de y para la oxacilina. Se interpretó como sensible o resistente, según lo establecido en el Estándar M100 del CLSI.



ANEXO 04

INSTRUMENTO

FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Los datos obtenidos serán registrados en la siguiente ficha:

Método empleado: Kirby-Bauer

Cepa empleada: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ZONA DE INHIBICIÓN (mm)						
Nº	Extracto etanólico de hojas de Palta				Oxacilina	Agua destilada
	100%	75%	50%	25%		
1	21	20	17	9	33	0
2	22	20	14	11	32	0
3	25	22	16	10	30	0
4	19	19	15	9	32	0
5	24	20	15	9	28	0
6	23	19	15	8	32	0
7	20	20	14	9	33	0
8	25	18	15	7	29	0
9	21	20	16	9	30	0
10	20	19	14	10	32	0

ANEXO 05

VALIDACIÓN Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO POR CADA EXPERTO

ÍTEM	CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LA VALIDEZ				CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS ESPECÍFICOS							
	CONTENIDO (Se refiere al grado en que el instrumento refleja el contenido de la variable que se pretende medir)		CONSTRUCTO (Hasta donde el instrumento mide realmente la variable, y con cuanta eficacia lo hace)		RELEVANCIA (El ítem es esencial o importante, es decir, debe ser incluido)		COHERENCIA INTERNA (El ítem tiene relación lógica con la dimensión o el indicador que está midiendo)		CLARIDAD (El ítem se comprende fácilmente, es decir, sus sintácticas y semánticas son adecuadas)		SUFICIENCIA (Los ítems que pertenecen a una misma dimensión bastan para obtener la dimensión de esta)	
	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO
1	X		X		X		X		X		X	
2	X		X		X		X		X		X	
3	X		X		X		X		X		X	

CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE LOS ASPECTOS GENERALES		SI	NO	OBSERVACIONES
El instrumento contiene instrucciones claras y precisas para responder la ficha de cotejos		X		
Los ítems permiten el logro del objetivo de la investigación		X		
Los ítems están distribuidos en forma lógica y secuencial		X		
El número de ítems es suficiente para recoger la información. En caso de ser negativa la respuesta sugiera los ítems a añadir		X		
VALIDEZ				
APLICABLE	X	NO APLICABLE		APLICABLE TENIENDO EN CUENTA OBSERVACIÓN

Validado por:

Fecha:


 Juan Carlos Pineda
 Firma y sello


 Steve T. Hurtado Escamilo
 MICRORREGIONALISTA DEL MUNDO
 Especialista en Salud Pública y Nutrición
 GEP: 2279 HONOLULU
 FIRMAS Y SELLOS
 Firma y sello


 María S. Ayala Ravelo
 Doctora en Salud Pública
 Docente Facultad Medicina
 FIRMAS Y SELLOS
 Firma y sello

ANEXO 06

MEDIDAS DE BIOSEGURIDAD PARA EL ESTUDIO EXPERIMENTAL²⁸

AMBIENTE SEGURO:

Limpieza: se lavará con agua y detergente, luego sin éste, realizando una acción mecánica o de arrastre sobre las superficies. La limpieza se realizará antes de todos los procedimientos de desinfección y esterilización todas las áreas.

La limpieza se realizará con paños húmedos y el barrido por medio de escoba húmeda, con la intención de prevenir la resuspensión de los microorganismos que se encuentran en el piso. Se iniciará por las partes más altas, siguiendo la línea horizontal, descendiendo por planos.

Desinfección: Se realizará utilizando principalmente agentes químicos en estado líquido, como el alcohol a 70%, la pasteurización a 75°C y la irradiación ultravioleta.

Descontaminación: Se realizará un tratamiento químico aplicado a objetos que tuvieron contacto con sangre o fluido corporales, con el fin de inactivar microorganismos en piel u otros tejidos corporales.

Esterilización: Esterilización por vapor, esterilización por calor seco, esterilización por inmersión en productos químicos.

PROTECCIÓN CORPORAL

Se hará uso de mandiles o batas, siendo esta una prioridad multifactorial para el ingreso a l área de trabajo, y en la realización de todos los procedimientos por parte de los integrantes del equipo.

Recomendaciones:

- Se usará bata, chaqueta o uniforme dentro de las instalaciones de trabajo (laboratorio).
- Esta ropa protectora fue retirada inmediatamente antes de abandonar el laboratorio.
- Fue transportada de manera adecuada a un lugar para posterior descontaminación y lavado.

PROTECCIÓN OCULAR Y TAPABOCA

El uso de lentes y de mascarillas tiene como fin proteger las membranas de las mucosas de boca, nariz y ojos durante los procedimientos y actividades que puedan generar aerosoles, y salpicaduras de fluidos.

Anteojos o lentes de Seguridad:

- Permiten una correcta visión.
- Tienen protección lateral y frontal, ventilación indirecta, visor de policarbonato, sistema antirrayaduras y antiempañantes.
- Permiten el uso simultáneo de lentes correctores.
- Son de uso personal.
- Serán usados en todo momento durante los procesamientos de las muestras y el fraccionamiento de las unidades de fluidos. Cualquier excepción a esta regla, fue descrita en el programa de bioseguridad del servicio.

TAPABOCA:

- Es de material impermeable frente a aerosoles o salpicaduras.
- Es amplio de tal forma que cubre la nariz y toda la boca.
- Será utilizado por el equipo durante todo el tiempo manteniéndolo limpio y sin deformación. Esto debido al tiempo de uso y cuidados que recibe.

PROTECCIÓN DE LOS PIES:

La protección se realizara para evitar lesiones producidas por sustancias corrosivas, descargas eléctricas, objetos pesados, así como para prevenir deslizamientos en pisos húmedos. Si cayera al suelo una sustancia corrosiva o un objeto pesado.

No se llevara ninguno de los siguientes tipos de calzados para transitar en el laboratorio:

- Zuecos
- Tacones altos
- Zapatos que dejen el pie al descubierto

Se elegirá un calzado de cuero resistente que cubrió todo el pie. Este tipo de calzado proporciono una mejor protección.

PROTECCIÓN DE LAS MANOS

Se hará uso de guantes para prevenir o disminuir el riesgo de contaminación con los microorganismos de la piel del operador, como de la transmisión de gérmenes manipulados hacia el operador. Las manos fueron lavadas según técnica clínica con solución a base de clorexidina y secadas antes del calzado de los guantes los cuales fueron estériles.

ANEXO 07

En el presente trabajo se respetó el principio de ética adoptado en el capítulo 6 del código de ética del Colegio Médico del Perú, Art 48.²⁹

Art. 48: “El médico debe presentar la información proveniente de una investigación médica, para su publicación, independientemente de los resultados, sin incurrir en falsificación ni plagio y declarando si tiene o no conflicto de interés”.

ANEXO 08

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Persea americana* "palta" SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA ESTUDIO IN VITRO

Comparaciones múltiples

Variable dependiente:

					Intervalo de confianza al 95%	
(I) VAR00006		Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Límite inferior	Límite superior
HSD Tukey	1,00	-6,00000*	0.66265	0.000	-7.8829	-4.1171
		-10,60000*	0.66265	0.000	-12.4829	-8.7171
		-12,90000*	0.66265	0.000	-14.7829	-11.0171
		-22,00000*	0.66265	0.000	-23.8829	-20.1171
	2,00	6,00000*	0.66265	0.000	4.1171	7.8829
		-4,60000*	0.66265	0.000	-6.4829	-2.7171
		-6,90000*	0.66265	0.000	-8.7829	-5.0171
		-16,00000*	0.66265	0.000	-17.8829	-14.1171
	3,00	10,60000*	0.66265	0.000	8.7171	12.4829
		4,60000*	0.66265	0.000	2.7171	6.4829
		-2,30000*	0.66265	0.010	-4.1829	-0.4171
		-11,40000*	0.66265	0.000	-13.2829	-9.5171
	4,00	12,90000*	0.66265	0.000	11.0171	14.7829
		6,90000*	0.66265	0.000	5.0171	8.7829
		2,30000*	0.66265	0.010	0.4171	4.1829
		-9,10000*	0.66265	0.000	-10.9829	-7.2171
	5,00	22,00000*	0.66265	0.000	20.1171	23.8829
		16,00000*	0.66265	0.000	14.1171	17.8829
		11,40000*	0.66265	0.000	9.5171	13.2829
		9,10000*	0.66265	0.000	7.2171	10.9829
T3 Dunnett	1,00	-6,00000*	0.46904	0.000	-7.4799	-4.5201
		-10,60000*	0.48305	0.000	-12.1225	-9.0775
		-12,90000*	0.76667	0.000	-15.4176	-10.3824
		-22,00000*	0.64807	0.000	-24.0863	-19.9137
	2,00	6,00000*	0.46904	0.000	4.5201	7.4799
		-4,60000*	0.45947	0.000	-6.0486	-3.1514
		-6,90000*	0.75203	0.000	-9.3925	-4.4075
		-16,00000*	0.63070	0.000	-18.0483	-13.9517

3,00	10,60000*	0.48305	0.000	9.0775	12.1225
	4,60000*	0.45947	0.000	3.1514	6.0486
	-2.30000	0.76085	0.082	-4.8073	0.2073
	-11,40000*	0.64118	0.000	-13.4708	-9.3292
4,00	12,90000*	0.76667	0.000	10.3824	15.4176
	6,90000*	0.75203	0.000	4.4075	9.3925
	2.30000	0.76085	0.082	-0.2073	4.8073
	-9,10000*	0.87496	0.000	-11.8730	-6.3270
5,00	22,00000*	0.64807	0.000	19.9137	24.0863
	16,00000*	0.63070	0.000	13.9517	18.0483
	11,40000	0.64118	0.000	9.3292	13.4708
	9,10000*	0.87496	0.000	6.3270	11.8730

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 09

EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANOLICO DE *Persea americana* "palta" SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 COMPARADO CON OXACILINA ESTUDIO IN VITRO

Prueba de homogeneidad de varianzas

		gl1	gl2	Sig.
VAR00007	Se basa en la media	4	45	0.007
	Se basa en la mediana	4	45	0.064
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	4	34.428	0.069
	Se basa en la media recortada	4	45	0.007

Fuente reporte de resultados del SPSS versión 25